

日 本 国 特 許 庁  
PATENT OFFICE  
JAPANESE GOVERNMENT

22.12.99

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出 願 年 月 日  
Date of Application:

1998年12月25日

REC'D 18 FEB 2000

出 願 番 号  
Application Number:

平成10年特許願第368699号

WIPO PCT

出 願 人  
Applicant(s):

山之内製薬株式会社

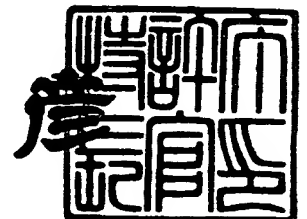
PRIORITY  
DOCUMENT

SUBMITTED OR TRANSMITTED IN  
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

2000年 2月 4日

特 許 庁 長 官  
Commissioner,  
Patent Office

近 藤 隆 彦



出証番号 出証特2000-3002628

【書類名】 特許願

【整理番号】 0000002845

【提出日】 平成10年12月25日

【あて先】 特許庁長官 殿

【国際特許分類】 A61K031/675

【発明の名称】 抗多発性骨髄腫剤

【請求項の数】 1

【発明者】

    【住所又は居所】 茨城県つくば市御幸が丘 2 1 山之内製薬株式会社内

    【氏名】 田中 章平

【発明者】

    【住所又は居所】 茨城県つくば市御幸が丘 2 1 山之内製薬株式会社内

    【氏名】 浅野 博信

【発明者】

    【住所又は居所】 茨城県つくば市御幸が丘 2 1 山之内製薬株式会社内

    【氏名】 神谷 うたね

【特許出願人】

    【識別番号】 000006677

    【氏名又は名称】 山之内製薬株式会社

【代理人】

    【識別番号】 100089200

    【弁理士】

    【氏名又は名称】 長井 省三

    【電話番号】 03-5916-5530

【選任した代理人】

    【識別番号】 100098501

    【弁理士】

    【氏名又は名称】 森田 拓

【選任した代理人】

【識別番号】 100109357

【弁理士】

【氏名又は名称】 矢野 恵美子

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 005348

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 図面 1

【物件名】 要約書 1

【プルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 抗多発性骨髄腫剤

【特許請求の範囲】

【請求項1】 1-ヒドロキシ-2-(イミダゾ[1,2-a]ピリジン-3-イル)エタン-1,1-ビスホスホン酸若しくはその塩を有効成分とする抗多発性骨髄腫剤。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】

本発明は、医薬、殊に抗多発性骨髄腫剤に関する。

【0002】

【従来の技術】

多発性骨髄腫は免疫グロブリン(Ig)を産生・分泌する形質細胞の腫瘍性疾患である。産生されるIgは均質であり、M蛋白と呼ばれる。大部分の症例で血中にM蛋白を認め、このM蛋白の種類に応じてIgG、IgA、BJP、IgD、IgE並びにIgM型に分類される。ここに、BJP型はIgのL鎖(Bence Jones細胞:BJP)のみが認められるタイプである。その主病巣は骨髄であり、骨髄腫細胞が骨髄に結節性に増殖し、骨病変が多発する。その他、貧血、腎障害、免疫不全などの特徴的な病像を示す。

中でも多発性骨髄腫における骨病変は、60～80%の患者に骨痛を生じさせ、病的骨折もしばしば見られることから、特に患者のクオリティーオブライフを悪化させる要因となっている。この骨病変は、病理学的には骨融解、骨粗鬆、骨折、及びこれらの組合わさった病像からなることが知られている。骨髄腫細胞におけるOsteoclast stimulating factor(OSF)活性のあるある種のサイトカインの産生が見いだされ、これらが多発性骨髄腫の骨病変形成の機序に関与していることが示唆されてはいるが、骨髄腫細胞が骨病変を生じさせるメカニズムは未だ解明されない(臨床腫瘍学 CLINICAL ONCOLOGY(日本臨床腫瘍研究会編、出版法人 癌と化学療法社、1996年発行))。

【0003】

多発性骨髄腫の治療は、化学療法（MP療法、VAD療法、C-VAD療法、多剤併用療法等）、IFN- $\alpha$ 併用化学療法が主として用いられ、骨病変の状態により局所的な放射線療法なども選択されている（前出 臨床腫瘍学 CLINICAL ONCOLOGY）。これらの治療により、生存期間の延長が認められているが、化学療法剤に対する薬剤耐性の出現により、治療に限界があることが知られており、更なる治療法の創製が切望されている。

また、最近、多発性骨髄腫の骨病変（骨融解や病的骨折）の進行を抑制する薬剤として、ビスフォスフォネートに属するクロドロネート、パミドロネートを用いることが提案されている（前出 臨床腫瘍学 CLINICAL ONCOLOGY）。しかしながら、未だこれらの薬剤は日本で抗多発性骨髄腫剤として承認されていない。また、ビスフォスフォネートのひとつであるリセドロネートが多発性骨髄腫患者の、骨吸収を抑制し骨密度を上昇させた事が報告されている。しかしながら、そのメカニズムは未だ解明されていない（Bone, Vol. 15, No. 1, p41-49, 1994）。

【0004】

一方、1-ヒドロキシ-2-（イミダゾ[1, 2-a]ピリジン-3-イル）エタン-1, 1-ビスホスホン酸（以下、化合物Aと略記する）又はその塩は、縮合複素環を骨格を有するビスフォスホン酸化合物であり、ページェット病、高カルシウム血症、癌の骨転移、骨粗鬆症、慢性関節リウマチ等の炎症性関節疾患に伴う骨吸収の亢進等の骨吸収を抑制する事は知られている（特公平6-99457号公報）。しかしながら、多発性骨髄腫における作用については、具体的に何等記載されていない。

【0005】

【発明が解決しようとする課題】

多発性骨髄腫の諸症状を改善し、多発性骨髄腫の進展を抑える、臨床上有用な医薬の創製が切望されている。

【0006】

【課題を解決するための手段】

本発明者等は化合物Aの各種薬理作用の研究を行っていたところ、化合物Aが、他のビスフォスフォネート化合物に比して、多発性骨髄腫による諸症状、中でも骨病変の進展を、極めて良好に抑制若しくは改善する事を見いだした。更に、化合物Aが骨髄腫細胞の増殖抑制作用を有することを見だし、本発明を完成した。

即ち本発明は、化合物A若しくはその塩を有効成分とする抗多発性骨髄腫剤、殊にその骨病変の改善剤に関するものである。

【0007】

#### 【発明の実施の形態】

以下、本発明を詳細に説明する。

本発明の「抗多発性骨髄腫剤」とは、多発性骨髄腫により生じる諸症状を抑制並びに改善する作用、及び／又は、多発性骨髄腫の進展自体を抑制若しくは改善する薬剤を意味する。ここに多発性骨髄腫により生じる諸症状としては、骨痛、骨吸収、骨融解、骨折、骨格破壊、骨密度の低下等の骨病変、及び骨病変に伴う、高カルシウム血症、腎障害又は神経症状等が挙げられる。更に、これらの症状改善に伴う、或いは、放射線治療の回数の低減、鎮痛剤の使用量の低減等による、多発性骨髄腫患者のクオリティー オブ ライフの改善剤も、本発明の「抗多発性骨髄腫剤」に包含される。

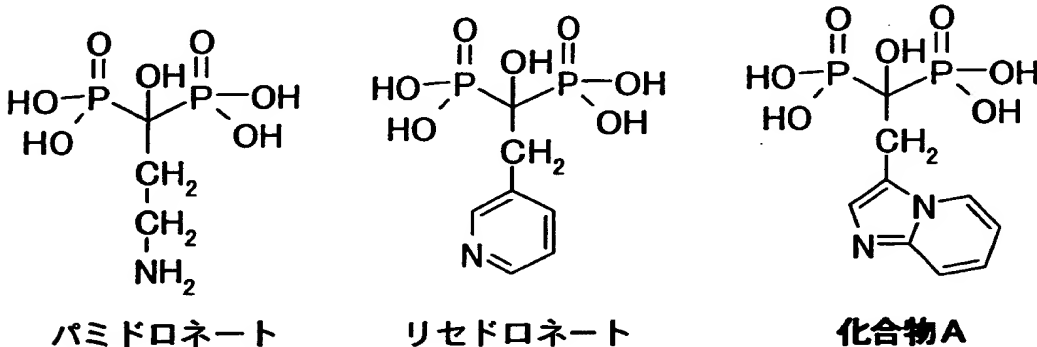
本発明の1-ヒドロキシ-2-(イミダゾ[1, 2-a]ピリジン-3-イル)エタン-1, 1-ビスホスホン酸(化合物A)又はその塩は特公平6-99457号公報に記載されており、当該公報に記載の方法で容易に入手できる。ここに、塩としては、薬理学上許容される塩であれば特に制限はなく、具体的には、ナトリウム、カリウム、マグネシウム、カルシウム、アルミニウム等の金属を含む無機塩基との塩、メチルアミン、エチルアミン、エタノールアミン、リジン、オルニチン等の有機塩基との塩やアンモニウム塩等が挙げられる。さらに、化合物Aあるいはその塩の各種の水和物や溶媒和物、及び結晶多形の物質であってもよい。特に、経口投与用固形製剤として用いる場合は、日本国特許第2721434号公報に記載された1-ヒドロキシ-2-(イミダゾ[1, 2-a]ピリジン-3-イル)エタン-1, 1-ビスホスホン酸 1水和物(以下、化合物A 1水

和物と略記する)の結晶を用いるのが好ましい。

# 【0008】

多発性骨髄腫の骨病変や高カルシウム血症に有用であることが従来報告されているパミドロネートやリセドロネートに対して、本発明の化合物Aは側鎖に縮合複素環骨格を有する点で、構造を異にするものである。これらの化合物の構造を以下に示す。ビスフォスフォネート類においては、そのP-C-P構造が骨ミネラルへの結合に関与する事が知られているが、薬理活性には側鎖の構造が大きく影響していると言われている。しかしながら、多発性骨髄腫において、これらの側鎖構造の違いがどのように影響するかについては、従来全く報告が無い。

## 【化1】



# 【0009】

本発明の化合物Aは、多発性骨髄腫の動物モデルにおいて、上記ビスフォスフォネート類と比して極めて優れた抗多発性骨髄腫作用を有することが判明した。殊に後記実施例1では、他のビスフォスフォネート化合物では効果が認められないにもかかわらず、化合物Aのみが多発性骨髄腫に起因する骨吸収を良好に抑制した。さらに実施例2に示すように、骨密度の低下を抑えることが判明した。よって、化合物Aは安全で効果の優れた臨床上有用な抗多発性骨髄腫剤、殊に骨病変改善剤となることが期待される。

また、骨病変に付随する高カルシウム血症や腎障害、病的圧迫骨折に伴う神経圧迫による神経症状等の他の多発性骨髄腫の症状をも改善することが期待される。

# 【0010】

更に、本発明の化合物Aは、後記実施例3に示すように、ヒト骨髓腫細胞の増殖をin vitroで抑制する作用が見いだされ、化合物Aが、骨病変における多発性骨髓腫細胞の増殖を抑制することが期待された。殊に、生体内に吸収された化合物Aの一部は骨組織に選択的に蓄積されることが分かっており、骨組織のみならずその周辺の骨髓においても化合物Aの濃度は他の組織より高くなることが判明している。このことは、化合物Aが骨髓腫細胞の増殖を選択的に抑制することに有利であると予想された。

そして、現在実施中の臨床試験においても、化合物Aが多発性骨髓腫の改善作用を有することを示唆する知見が得られている（実施例4参照）。

従来、ビスフォスフォネート化合物が多発性骨髓腫自体を抑制若しくは改善した臨床報告は1例も無い。よって、本願の化合物Aは、多発性骨髓腫自体を抑制若しくは改善する初めてのビスフォスフォネート化合物である。

従って、化合物Aは多発性骨髓腫の骨病変を良好に改善し、更にビスフォスフォネート化合物としては初めて、多発性骨髓腫を抑制若しくは改善する画期的な薬剤となりうるものとして有用である。

#### 【0011】

本発明の剤は、化合物A又はその塩の1種又は2種以上と、通常製剤化に用いられる、薬剤用担体、賦形剤、その他添加剤を用いて、通常使用されている方法によって調製することができる。投与は錠剤、丸剤、カプセル剤、顆粒剤、散剤、液剤等による経口投与、又は、静注、筋注等の注射剤、坐剤、経皮等による非経口投与のいずれの形態であってもよい。

本発明による経口投与のための固体組成物としては、錠剤、散剤、顆粒剤等が用いられる。このような固体組成物においては、ひとつ又はそれ以上の活性物質が、少なくともひとつの不活性な希釈剤、例えば乳糖、マンニトール、ブドウ糖、ヒドロキシプロピルセルロース、微結晶セルロース、デンプン、ポリビニルピロリドン、メタケイ酸アルミン酸マグネシウムと混合される。組成物は、常法に従って、不活性な希釈剤以外の添加剤、例えばステアリン酸マグネシウムのような潤滑剤や繊維素グリコール酸カルシウムのような崩壊剤、ラクトースのような安定化剤、グルタミン酸又はアスパラギン酸のような溶解補助剤を含有して

もよい。錠剤又は丸剤は必要によりショ糖、ゼラチン、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロースフタレートなどの糖衣又は胃溶性若しくは腸溶性物質のフィルムで被膜してもよい。

#### 【0012】

経口投与のための液体組成物は、薬剂的に許容される乳濁剤、溶液剤、懸濁剤、シロップ剤、エリキシル剤等を含み、一般的に用いられる不活性な希釈剤、例えば精製水、エタノールを含む。この組成物は不活性な希釈剤以外に湿潤剤、懸濁剤のような補助剤、甘味剤、風味剤、芳香剤、防腐剤を含有していてもよい。

非経口投与のための注射剤としては、無菌の水性又は非水性の溶液剤、懸濁剤、乳濁剤を含有する。水性の溶液剤、懸濁剤としては、例えば注射用蒸留水及び生理食塩液が含まれる。非水溶性の溶液剤、懸濁剤としては、例えばプロピレングリコール、ポリエチレングリコール、オリーブ油のような植物油、エタノールのようなアルコール類、ポリソルベート80等がある。このような組成物は、さらに防腐剤、湿潤剤、乳化剤、分散剤、安定化剤（例えば、ラクトース）、溶解補助剤（例えば、グルタミン酸、アスパラギン酸）のような補助剤を含んでもよい。これらは例えばバクテリア保留フィルターを通す濾過、殺菌剤の配合又は照射によって無菌化される。これらはまた無菌の固体組成物を製造し、使用前に無菌水又は無菌の注射用溶媒に溶解して使用することもできる。

#### 【0013】

通常経口投与の場合、1日の投与量は、体重当たり約0.001から50mg/kg、好ましくは約0.01から1mg/kg、更に好ましくは約0.04から0.4mg/kgが適当であり、これを1回であるいは2乃至4回に分けて投与する。静脈投与される場合は、1日の投与量は、体重当たり約0.0001から1mg/kgが適当で、1日1回乃至複数回に分けて投与する。投与量は症状、年齢、性別等を考慮して個々の場合に応じて適宜決定される。

以下、本発明予防・治療剤の効果を実施例で示す。なお、本発明の範囲は以下の実施例により何等限定されることはない。

#### 【0014】

##### 【実施例】

実施例1：多発性骨髄腫動物モデルにおける骨吸収の抑制試験

## &lt;方法&gt;

C. B-17/Icr-scid Jclマウス（雄、5週齢）に抗アシアロGM1抗体を処置し、NK活性を低下させた。翌日、ペントバルビタール麻酔下にマウス左心室内に骨髄腫細胞ARH-77（ $10^6$  cells/マウス）を移植した。腫瘍移植後約3週から後肢麻痺の認められたマウスを選別し、化合物A1水和物（0.1 mg/kg）、パミドロネート（0.1 mg/kg）またはリセドロネート（0.1 mg/kg）を含む水溶液、又は溶媒のみ（溶媒群）、を単回静脈内投与した。投与後4日目にこれらマウスに生理食塩水負荷（30 ml/kg po）後6時間採尿した。後肢麻痺を発症したマウスでは排尿困難であるため、開腹下に膀胱から直接尿を採取した。なお、左心室に骨水腫細胞に代えてPBS（0.1 ml/body）を注入した正常マウス（擬手術群）についても同様の操作を行った。PYRILINKS-Dキット（Amersham）を用いて尿中デオキシピリジノリン（Dpyr）濃度を測定し、尿中クレアチニン濃度で補正した。

【0015】

## &lt;結果及び考察&gt;

結果を図1に示す。骨髄腫による後肢麻痺の認められたマウスの溶媒投与群では、正常マウス（擬手術群）に比して、骨吸収マーカーである尿中Dpyr濃度の大幅な上昇が認められた。一方、化合物A投与群ではこのDpyr濃度上昇が有意に抑制され、正常マウス（擬手術群）と同程度の骨吸収値を示した。他方、パミドロネート若しくはリセドロネート投与群では抑制作用を示さなかった。以上の成績から、化合物Aのみが骨髄腫の浸潤に伴う骨吸収を良好に抑制することが確認された。

【0016】

実施例2：多発性骨髄腫動物モデルでの腰椎骨密度の低下抑制試験

## &lt;方法&gt;

実施例1と同様に、骨髄腫細胞移植後3週から後肢麻痺の認められたマウスを選別し、化合物A1水和物（3 mg/kg）水溶液（化合物A群）、又は溶媒の

み（溶媒群）を一日一回6日間反復経口投与した。投与終了翌日にペントバルビタール麻酔下に10%ホルマリン溶液を左心室から還流し、腰椎骨を摘出した。これら骨組織の骨密度をDXA法にて測定した。実施例1と同様に、擬手術した正常マウス（擬手術群）についても同じく骨密度を測定した。

#### <結果>

各群の骨密度は以下の通りであった。

擬手術群：  $29.1 \pm 0.3 \text{ mg/cm}^2$

溶媒群：  $22.4 \pm 0.7 \text{ mg/cm}^2$

化合物A群：  $24.7 \pm 0.9 \text{ mg/cm}^2$

#### <考察>

骨髄腫により後肢麻痺の認められたマウスの溶媒群では、正常マウス（擬手術群）に比して明らかな腰椎骨密度の低下が認められた。一方、化合物A群では骨密度が溶媒群に比して  $2.3 \text{ mg/cm}^2$  程度高値を示した。以上の成績から、化合物A群は骨髄腫の浸潤に伴う骨密度の低下を良好に抑制若しくは改善することが確認された。

【0017】

#### 実施例3：骨髄腫細胞の増殖抑制試験

##### <方法>

カルチャーフラスコ内で培養したヒト骨髄腫細胞ARH-77をRPMI 1640培地（10%FBS含有）を用いて  $5 \times 10^4 \text{ cells/ml}$  の細胞希釈液を調製し、24穴プレートに1mlずつ分注し、37℃ CO<sub>2</sub>インキュベーター内で培養した。6時間後に化合物A1水和物の水溶液を100μlずつ添加し、最終濃度を0.3～1000μMとした（3倍比、サンプル数2）。4日間37℃ CO<sub>2</sub>インキュベーター内で培養した後、Cell Counting Kit（同仁化学）を用いて生細胞数を測定した。対照としてPBSを添加したものを細胞増殖率100%とし、抑制率を算出した。

##### <結果および考察>

化合物AはARH-77の細胞増殖を濃度依存的に抑制し、100μMでの抑制率は84.2%であった。以上の成績から、化合物Aは骨髄腫細胞の増殖抑制

作用を有していた。また、上記多発性骨髄腫モデルの骨病変改善作用に当該増殖抑制作用が関与している可能性が示唆された。

#### 【0018】

#### 実施例 4：臨床試験

I g D 型多発性骨髄腫の 42 歳の女性患者に対し、1997 年 6 月 30 日から 10 月 3 日まで約 3 ヶ月の化学療法（C-VAD 療法）治療後、骨吸収マーカーの上昇が認められたため、1997 年 11 月 12 日から化合物 A 1 水和物（3 mg/日）のみを継続して 24 週間投与した。

その結果、骨吸収マーカーは良好に低下し、8 週後には D p y r 濃度は投与前の約 60% まで低下した。また、腫瘍マーカーである血中の M 蛋白（I g D）の値も化合物 A の投与開始とともに表 1 に示すように低下し、多発性骨髄腫の改善が示唆された。

【表 1】

M 蛋白（I g D）の推移

	投与前	2 週後	4 週後	8 週後	20 週後
IgD (mg/dl)	25.8	11.6	9.8	7.7	5.9

#### 【0019】

#### 【発明の効果】

本発明の抗多発性骨髄腫剤は、多発性骨髄腫により生じる骨吸収を良好に抑制し、骨密度の低下を抑制する。また、多発性骨髄腫に伴う、骨痛や骨格の破壊の軽減、骨折の数や放射線治療の必要な回数の低減、これらに加えて高カルシウム血症の抑制、神経症状の改善等により、総合的に多発性骨髄腫に伴う諸症状を改善する。更には、多発性骨髄腫自体の進行を抑制し、改善することが期待される。

#### 【0020】

#### 【図面の簡単な説明】

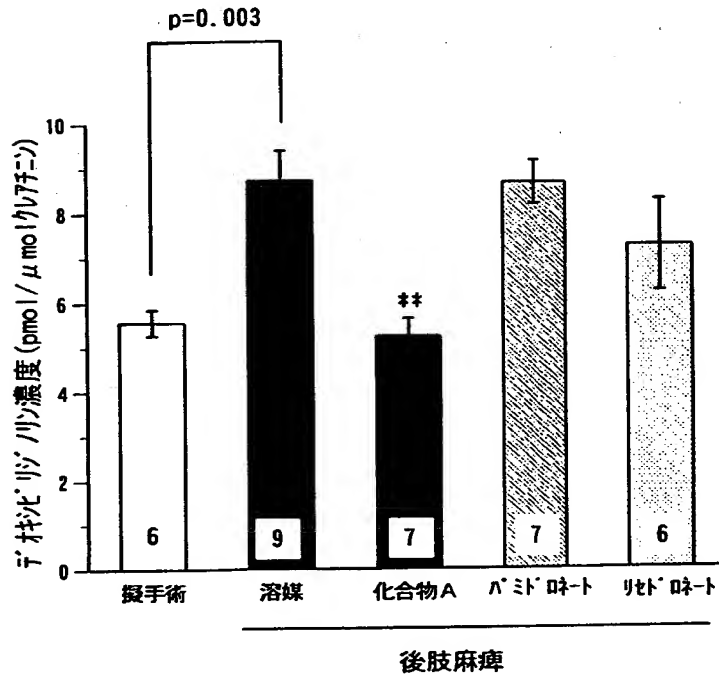
#### 【図 1】

図 1 は、実施例 1 における、骨吸収抑制の程度をデオキシピリジノリン濃度を

指標として示した図である。図中のカラムは平均値±標準誤差を示す。カラム内の数字は例数を示す。擬手術群と後肢麻痺溶媒群との比較にはStudent's t検定を用いた。\*は後肢麻痺溶媒群との有意差を示す（\*\*： $p < 0.01$ 、Dunnettの多重比較検定）。

【書類名】 図面

【図1】



【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 医薬、殊に多発性骨髄腫の諸症状を改善し、多発性骨髄腫の進展を抑える、臨床上有用な抗多発性骨髄腫剤を提供する。

【解決手段】 1-ヒドロキシ-2-(イミダゾ[1,2-a]ピリジン-3-イル)エタン-1,1-ビスホスホン酸若しくはその塩を有効成分とする抗多発性骨髄腫剤。

【選択図】 無し

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号 [000006677]

1. 変更年月日 1990年 8月10日  
[変更理由] 新規登録  
住 所 東京都中央区日本橋本町2丁目3番11号  
氏 名 山之内製薬株式会社